ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 39, 3, 2005

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 576.895.122 : 599.323.4

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ НОВОЙ КОНЦЕПЦИИ СТАНОВЛЕНИЯ ИНВАЗИИ OPISTHORCHIS FELINEUS У ОКОНЧАТЕЛЬНОГО ХОЗЯИНА

© Ф. П. Коваленко, Е. А. Черникова, В. Ю. Михелев, Г. А. Шатверян

Установлена восприимчивость золотистых хомяков с оперативно перевязанным общим желчным протоком к экспериментальному заражению неэксцистированными метацеркариями *O. felineus*, введенными в желудок. Эксцистированные метацеркарии *O. felineus*, введенные интактным золотистым хомякам в систему воротной вены, приживаются в желчных путях печени животных и развиваются до половозрелой стадии. В условиях *in vitro* в цельной сыворотке крови интактных золотистых хомяков эксцистированные метацеркарии *O. felineus* выживают в течение 1 сут экспозиции. Результатами исследований обосновывается оригинальная концепция раннего этапа становления инвазии *O. felineus* желчных путей печени окончательного хозяина в результате гематогенной миграции метацеркариев паразита через систему воротной вены из слизистой оболочки пищеварительного тракта хозяина.

Со времени открытия жизненного цикла возбудителя описторхоза путь заражения окончательного хозяина метацеркариями (М) *Opisthorchis felineus* не вызывал сомнений. Согласно общепринятой концепции, эксцистированные и активированные в двенадцатиперстной кишке (ДПК) хозяина М проникают в общий желчный проток (изредка — в проток поджелудочной железы), затем в желчные протоки печени, где и достигают половой зрелости. Однако эта концепция, не имеющая до настоящего времени экспериментального обоснования, нам представляется мало убедительной ввиду следующих контраргументов: малая вероятность строго направленного и упорядоченного поступления большого числа М в общий желчный проток в течение ограниченного времени перемещения химуса с М в просвете ДПК в зоне, непосредственно прилегающей к устью общего желчного протока; неблагоприятные условия миграции М в желчных путях хозяина против тока желчи; редкая локализация паразита в поджелудочной железе, проток которой вместе с общим желчным протоком открывается общим отверстием на большом сосочке ДПК. Указанных противоречий лишена предлагаемая нами альтернативная концепция патогенеза описторхоза, согласно которой основной путь миграции М при заражении окончательного хозяина включает следующие этапы: в различных участках внутренней поверхности ДПК М активно проникают через слизистую оболочку, внедряясь в сосуды ее венозной сети, и током крови пассивно заносятся через систему воротной вены в междольковые вены печени; затем М активно перфорируют стенку междольковых вен, внедряются в прилежащие междольковые желчные канальцы и с током желчи мигрируют в желчные пути хозяина. Для обоснования предложенной гипотезы были предприняты опыты по экспериментальному заражению золотистых хомяков описторхозом с искусственным изменением условий и пути введения М животным: введение М в желудок после оперативной перевязки общего желчного протока; инъекция М в систему воротной вены хозяина. Дополнительно в условиях *in vitro* изучали выживаемость М в сыворотке крови интактных золотистых хомяков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

М выделяли из мышечной ткани, кожи и подкожной клетчатки язей, отловленных в р. Тур в окрестностях г. Тюмени, методом пептического переваривания (Баяндина и др., 1985). В качестве инвазионного материала использовали неэксцистированные М (НМ) и спонтанно эксцистированные М (ЭМ) после инкубации в физиологическом растворе (ФР) при 37° С. Количество М, вводимых животным-реципиентам, подсчитывали на часовом стекле под бинокулярной лупой МБС-9. Реципиентами служили золотистые хомяки обоего пола в возрасте 1—1.5 мес. Животных разделили на 3 группы по 8—12 голов в каждой. Хомякам первой экспериментальной группы вводили в желудок (с помощью шприца и металлической канюли) по 50 НМ в 1 мл ФР через 10—12 мин после оперативной перевязки общего желчного протока. Операцию выполняли под эфирным наркозом; переднюю брюшную стенку рассекали послойно по средней линии от мечевидного отростка (длина разреза 3—4 см), общий желчный проток туго перевязывали шелковой нитью в двух участках на расстоянии 3—4 мм один от другого и послойно зашивали брюшную стенку. Хомякам второй экспериментальной группы после вскрытия брюшной полости под эфирным наркозом вводили в верхнюю брыжеечную вену по 20 ЭМ в 0.5 мл ФР с помощью комбинированного катетера, состоящего из черенка инъекционной иглы, внутренним диаметром 0.3 мм, и жестко соединенного с ним прозрачного полиэтиленового капилляра, ранее описанным методом (Коваленко и др., 1986). Для профилактики перитонита животным обеих экспериментальных групп вводили внутрибрюшинно однократно по 5.0 мл ФР с антибиотиками (2000 ЕД/мл пенициллина и 0.3 мг/мл гентамицина). Хомяки третьей группы, которым вводили в желудок по 50 НМ в 1.0 мл ФР, служили контролем инвазивности использованных М. При вскрытии животных через 6—39 дней после заражения определяли количество, размеры, степень зрелости и жизнеспособность описторхисов, прижившихся в желчных путях печени. Критерием жизнеспособности служила двигательная и присасывательная активность паразитов. Фекалии животных исследовали на наличие яиц паразитов методом Като с 25-го дня после заражения. В условиях *in vitro* изучали выживаемость ЭМ в цельной сыворотке интактных золотистых хомяков. В опыте использовали пул свежих сывороток от 7 взрослых хомяков обоего пола, массой тела 86—93 г. 3 опытные пробы, инкубируемые при 37° С в течение 1 сут, содержали по 3.5—4 мл сыворотки и 30 ЭМ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все 12 золотистых хомяков, получившие НМ в желудок после оперативной перевязки общего желчного протока и погибшие через 6—16 дней после заражения с характерными явлениями обтурационной желтухи, оказались зараженными описторхозом. Число прижившихся у них описторхисов составляло в среднем 13.6 экз. на 1 животное. Все паразиты, представленные юными формами, были подвижны, длина их не превышала 2 мм. Такая же экстенсивность заражения установлена у 11 хомяков после инъекции ЭМ животным в систему воротной вены. В желчных путях печени у всех животных этой группы, вскрытых через 34—36 дней после заражения, выявлены живые зрелые описторхисы, число которых на 1 животное колебалось от 2 до 6 (в среднем — 3.9) особей. У всех хомяков яйца паразитов выявлены в фекалиях через 25—28 дней после заражения. Инвазивность использованных М подтверждена результатами вскрытия 8 хомяков контрольной группы через 36—39 дней после заражения. У всех контрольных животных в желчных путях выявлено по 9—36 зрелых и подвижных описторхисов (в среднем 21.5 экз. на 1 животное), имевших нормальную структуру. В фекалиях контрольных хомяков яйца паразитов выявлялись через 25—26 дней после заражения. Представленные в таблице существенные различия между средними показателями приживаемости паразитов у животных контрольной и экспериментальных групп можно объяснить возможным влиянием ряда факторов, ограничивающих приживаемость М у хомяков экспериментальных групп: эфирный наркоз, резкое расстройство всех функций пищеварения и, следовательно, оптимальных условий активации М (при перевязке общего желчного протока), неизбежное травмирование многих ЭМ (в процессе их введения в вену через узкий канал катетера). Особого внимания заслуживает феномен приживаемости паразитов у хомяков в условиях отсутствия поступления желчи в просвет ДПК (после перевязки общего желчного протока). Это свидетельствует о том, что желчь хозяина нельзя рассматривать в качестве обязательного фактора активации М для реализации инвазии. Результаты опыта *in vitro* показали, что цельная сыворотка крови интактных хомяков не оказывает губительного действия на ЭМ. В опытных пробах через 1 сут инкубации 86.6—100 % ЭМ сохраняли двигательную активность и не имели деструктивных изменений.

Таким образом, полученные результаты, показавшие возможность приживания М в желчных путях золотистых хомяков после перевязки у животных общего желчного протока или при введении М в систему воротной вены хомяков, а также способность М длительно выживать в цельной сыворотке крови окончательного хозяина, убедительно свидетельствуют в пользу предложенной нами альтернативной концепции основного гематогенного пути миграции М *O. felineus*, играющего ведущую роль в становлении инвазии у окончательного хозяина и влияющего на патогенез описторхоза. Вместе с тем, учитывая возможность внедрения М *O. felineus* в проток поджелудочной железы из просвета ДПК, а также способность личинок трематод других видов (*Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum*, *Paragonimus ringeri*, *Fasciola hepatica* и др.) мигрировать из ДПК (или через кожу) в систему воротной вены гематогенно или в желчные пути печени парентерально через глиссонову капсулу органа (Кассирский, Плотников, 1964), не исключается возможность и других путей миграции М *O. felineus* при заражении окончательного хозяина: через общий желчный проток в

Восприимчивость золотистых хомяков к инвазии *O. felineus* при оральном введении метацеркариев (М) после перевязки у животных общего желчного протока и при инъекции М животным в систему воротной вены

Receptivity of the golden hamsters to the *Opisthotrchis felineus* infection in the case of oral passing metacercariae into hosts with the general bilious duct blocked, and in the case of injection metacercariae into the portal vein

Группы животных	Число животных	Число введенных М на 1 животное	Срок вскрытия после заражения, дни	Средние количественные показатели восприимчивости к инвазии на 1 животное	
				количество гельминтов в желчных путях печени	доля прижившихся паразитов от числа введенных, %
Заражены неэксцистированными М в желудок после перевязки общего желчного протока	12	50	6—16	13.6 ± 1.5	27.2 ± 3.0
Заражены эксцистированными М в верхнюю брыжеечную вену	11	20	34—36	3.9 ± 0.4	9.5 ± 2.2
Заражены неэксцистированными М в желудок (контроль инвазивности изолята)	8	50	36—39	21.5 ± 3.7	43.0 ± 7.4

желчные пути печени; в венозную сеть слизистой оболочки общего желчного протока и далее через систему воротной вены в желчные пути печени; через стенку ДПК в брюшную полость, затем в паренхиму печени и ее желчные протоки. Дальнейшие экспериментальные и клинические исследования в свете новой концепции позволят расширить представления о механизмах взаимоотношений в системе хозяин—паразит при описторхозе человека и животных.

ВЫВОДЫ

1. Искусственная обтурация общего желчного протока у золотистых хомяков не препятствует приживаемости в желчных путях животных неэксцистированных метацеркариев *O. felineus*, введенных в желудок.
2. Желчь не является фактором активации метацеркариев *O. felineus* в пищеварительном тракте окончательного хозяина для реализации инвазии.
3. Эксцистированные метацеркарии *O. felineus*, введенные в систему воротной вены интактным золотистым хомякам, приживаются в желчных путях печени животных и развиваются до половозрелой стадии.
4. Сыворотка крови интактных золотистых хомяков не влияет на жизнеспособность эксцистированных метацеркариев *O. felineus* в условиях in vitro в течение 1 сут экспозиции.

Список литературы

Баяндина Д. Г., Казанцева Г. Н., Кротов А. И., Черняева А. И., Коваленко Ф. П. Метод повышения воспроизводимости экспериментальной модели описторхоза // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни. 1985. № 6. С. 77—79.

Кассирский И. А., Плотников Н. Н. Болезни жарких стран. М.: Медицина, 1964. С. 215—274.

Коваленко Ф. П., Джабарова В. И., Рудаков В. А., Кротов А. И., Шадрин Б. П., Збарский А. И., Буланова Т. Е. Методы воспроизведения модели ларвального многокамерного эхинококкоза с первичным поражением печени или легких // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни. 1986. № 5. С. 71—74.

Институт медицинской паразитологии
и тропической медицины им. Е. И. Марциновского,
кафедра биологии
Московской медицинской академии им. И. М. Сеченова МЗ РФ,
Российский научный центр хирургии РАМН,
Москва,
НПО «Европа-Биофарм»,
Волгоград

Поступила 17 VIII 2004

EXPERIMENTAL GROUNDS OF A NEW CONCEPT OF OPISTHORCHIS FELINEUS INFECTION FORMATION IN A DEFINITIVE HOST

F. P. Kovalenko, E. A. Chernikova, V. Yu. Mikhalev, G. A. Shatveryan

Key words: *Opisthorchis felineus*, metacercaria, experimental infection.

SUMMARY

In the course of experiments in was found out that golden hamsters having the bilious duct operationally blocked display receptivity to the infection with the non-excysted *Opisthorchis felineus* metacercariae passed to the stomach. Excysted metacercariae injected to the system of the portal vein settle down in the bilious pathways of the liver and develop there up to the adult stage. In vitro, the metacercariae survive in the blood serum of the intact golden hamsters during one day. Based on the experiments, it is hypothesized that the early stage of *O. felineus* infection in the bilious duct of definitive hosts is performed by means of hematogenic migration of metacercariae through the portal veins system from the mucous layer of the alimentary tract of the host.